

MOLEKULÁRNÍ GENETIKA I

Stomatologie



**kódující
paměťové
pozitivní
+ DNA vlákno**

**5' ATG GAA GAG CTC ACG GCT 3'
3' TAC CTT CTC GAG TGC CGA 5'**

**antikódující
pracovní
negativní
- DNA vlákno**

mRNA

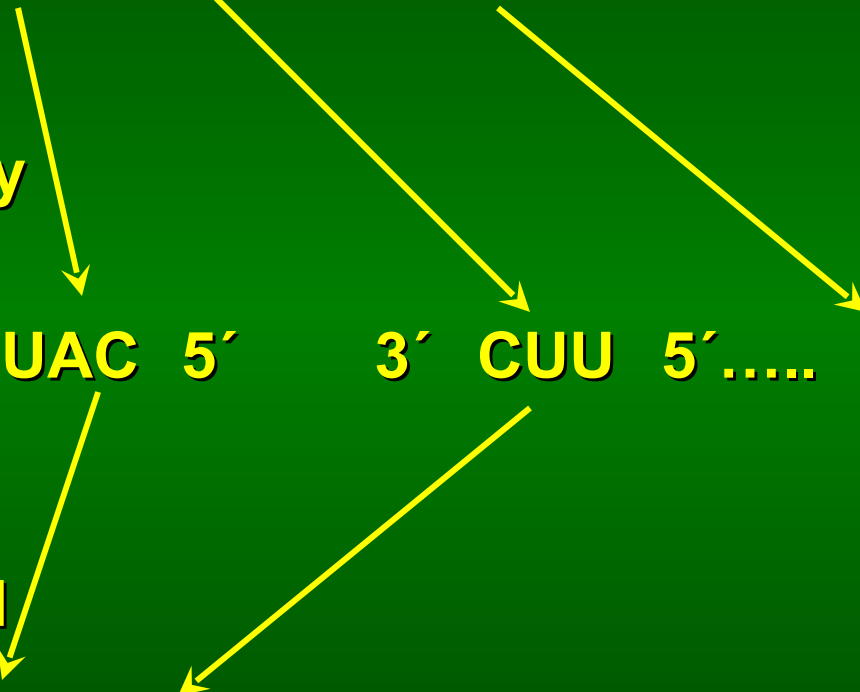
5' AUG GAA GAG CUC ACG GCU 3'

**antikodony
tRNA**

3' UAC 5' 3' CUU 5'.....

polypeptid

Met – Glu – Glu – Leu- Thr- Ala



Je dán úsek paměťového vlákna DNA genu pro lidský inzulín:

5' ATG GCC CTG TGG ATG CGC 3'

Odvod'te a zapište:

- a) komplementární pracovní vlákno DNA**
- b) mRNA**
- c) kódovaný polypeptid**

Řešení:

a)

3' TAC CGG GAC ACC TAC GCG 5'

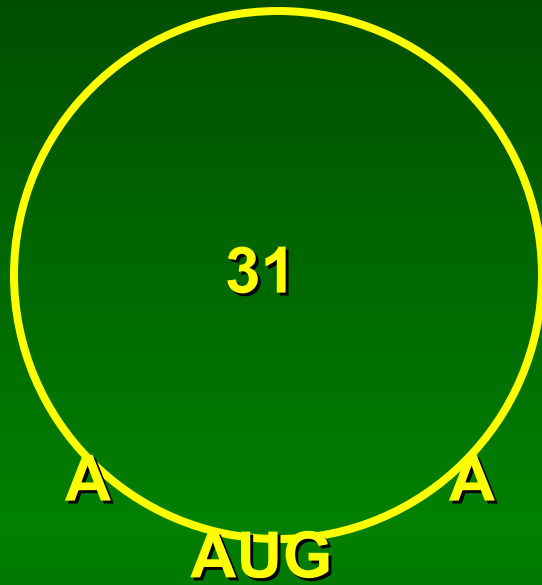
b)

5' AUG GCC CUG UGG AUG CGC 3'

c)

Met – Ala – Leu – Trp – Met - Arg

a)



met 9lys asn glu 9lys

b)



(met 9phe tyr val 8phe leu cys 9phe) ∞

c)



(met 9pro his ala 9pro cys 9 pro) ∞

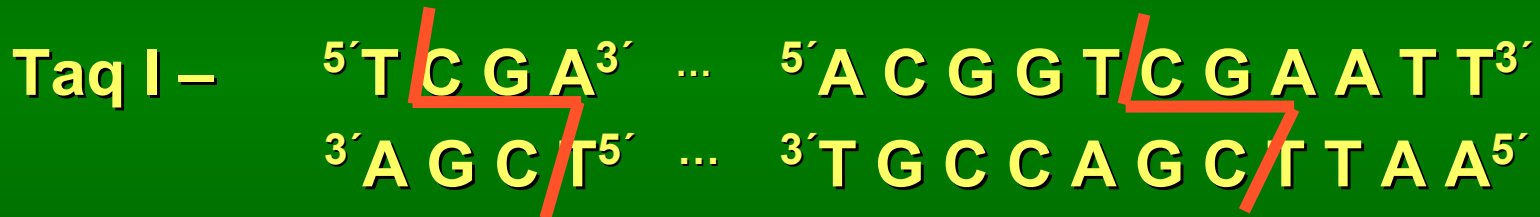
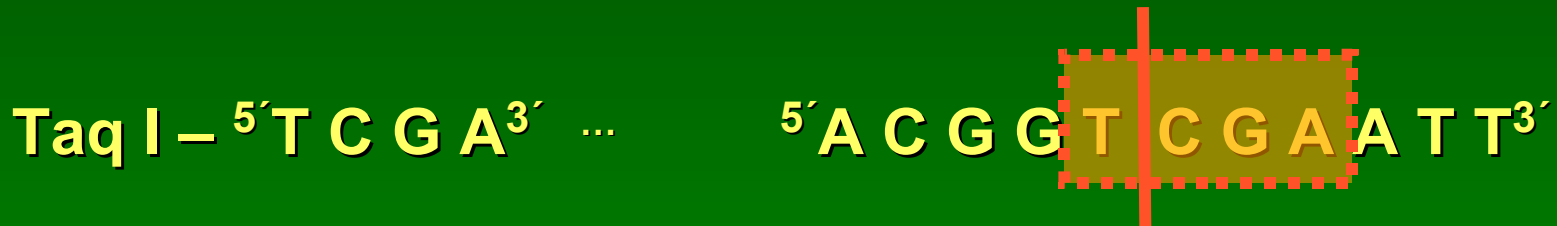
d)



(met 9gly asp 10gly trp 9gly) ∞

RESTRIKČNÍ ENDONUKLEÁZY

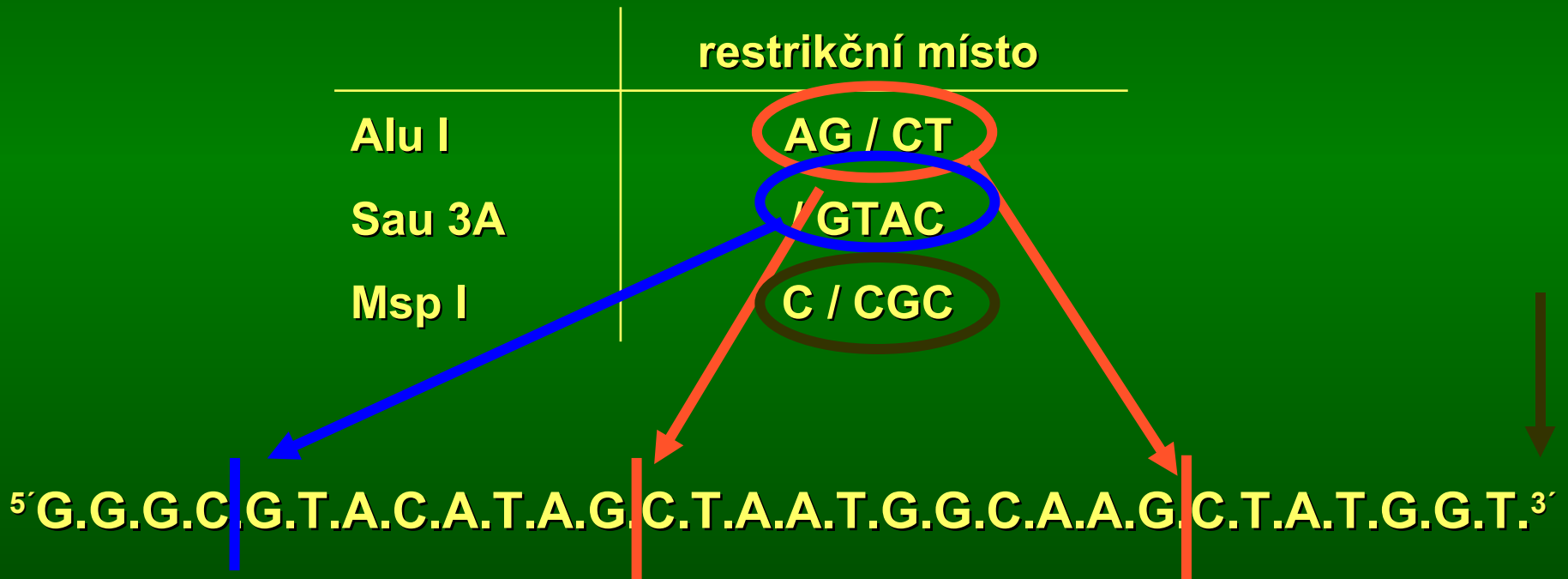
ECo RI – Escherichia coli – restriktáza I



Identifikace restrikčních míst

Úkol č. 1, str. 71

Najděte restrikční místa pro nabídnuté enzymy na uvedeném vlákně:



Identifikace restrikčních míst

Úkol č. 1, str. 71

Najděte restrikční místa pro nabídnuté enzymy na uvedeném vlákně:

	restrikční místo	
Alu I	AG / CT	2x
Sau 3A	/ GTAC	1x
Msp I	C / CGC	0

5' G.G.G.C | G.T.A.C.A.T.A.G | C.T.A.A.T.G.G.C.A.A.G | C.T.A.T.G.G.T. 3'

Identifikace restričních míst

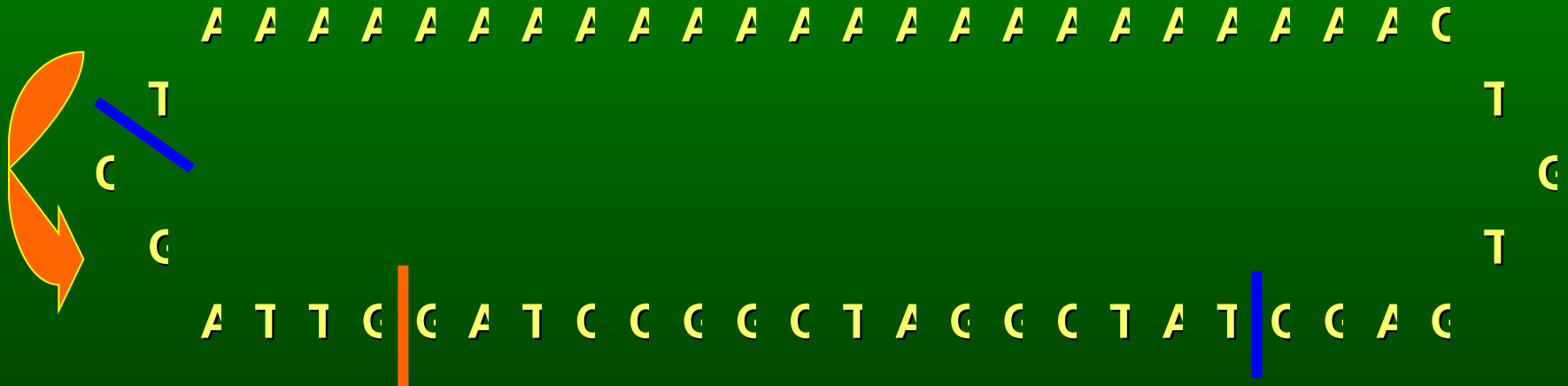
Úkol č. 2, str. 71

Kterou z nabízených restriktáz můžete použít :

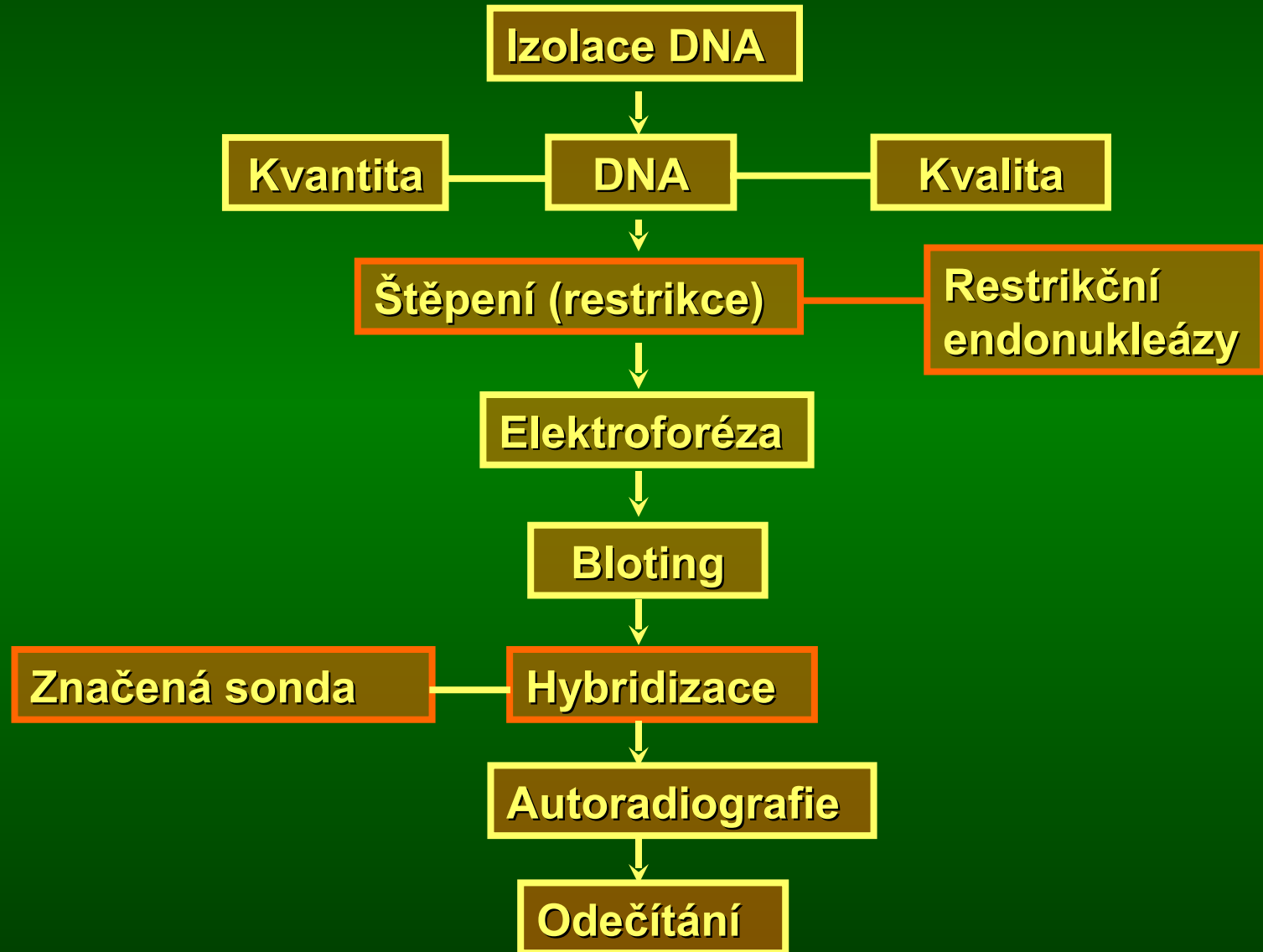
a) pro linearizaci dané cirkulární struktury

b) pro vyštěpení takového úseku, aby obsahoval poly-A sekvenci.

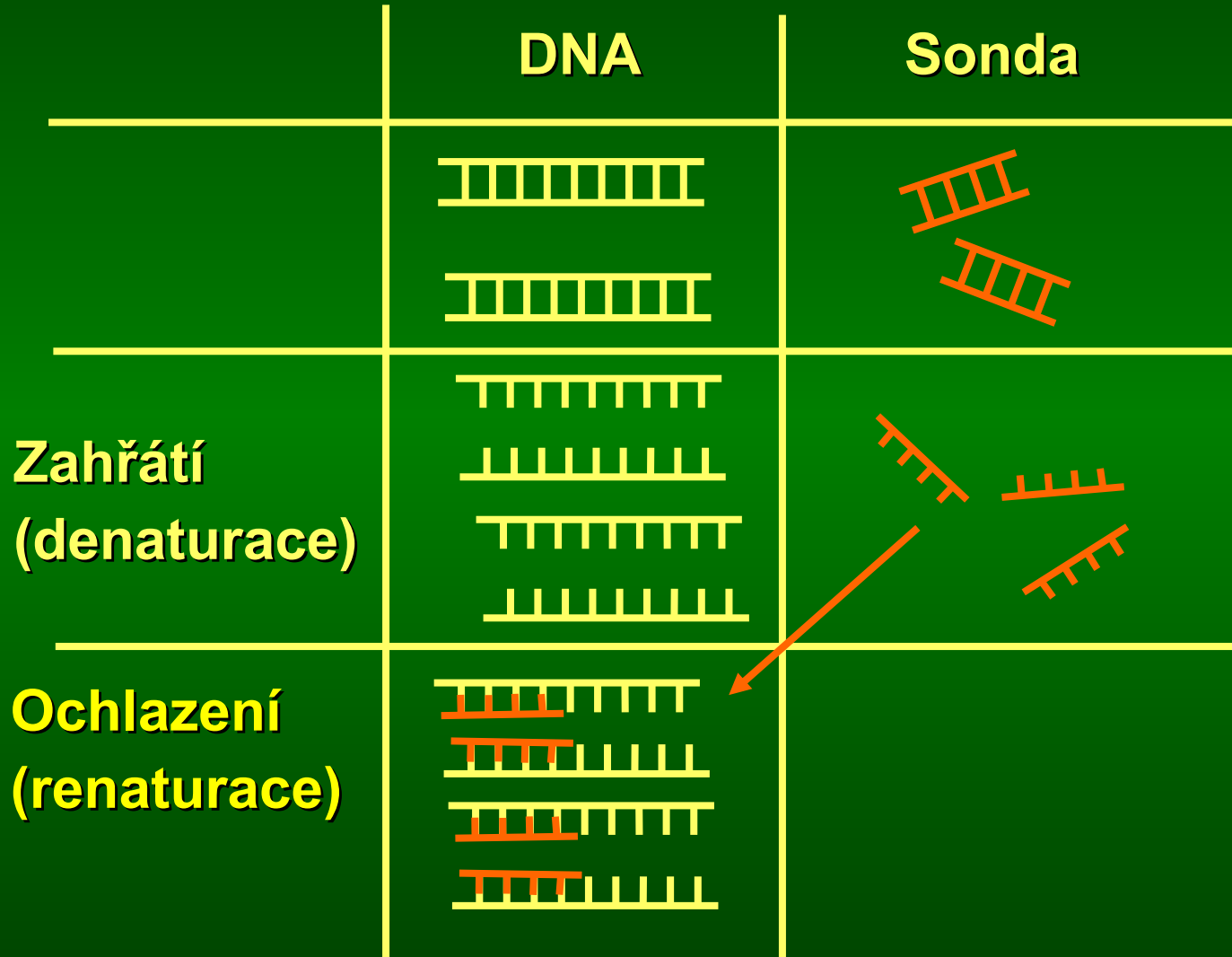
	restriční místo	
Taq I	T / CGA	2 místa - vyštěpení
Pvu I	CGAT / CG	
Bam HI	G / GATCC	1 místo - linearizace

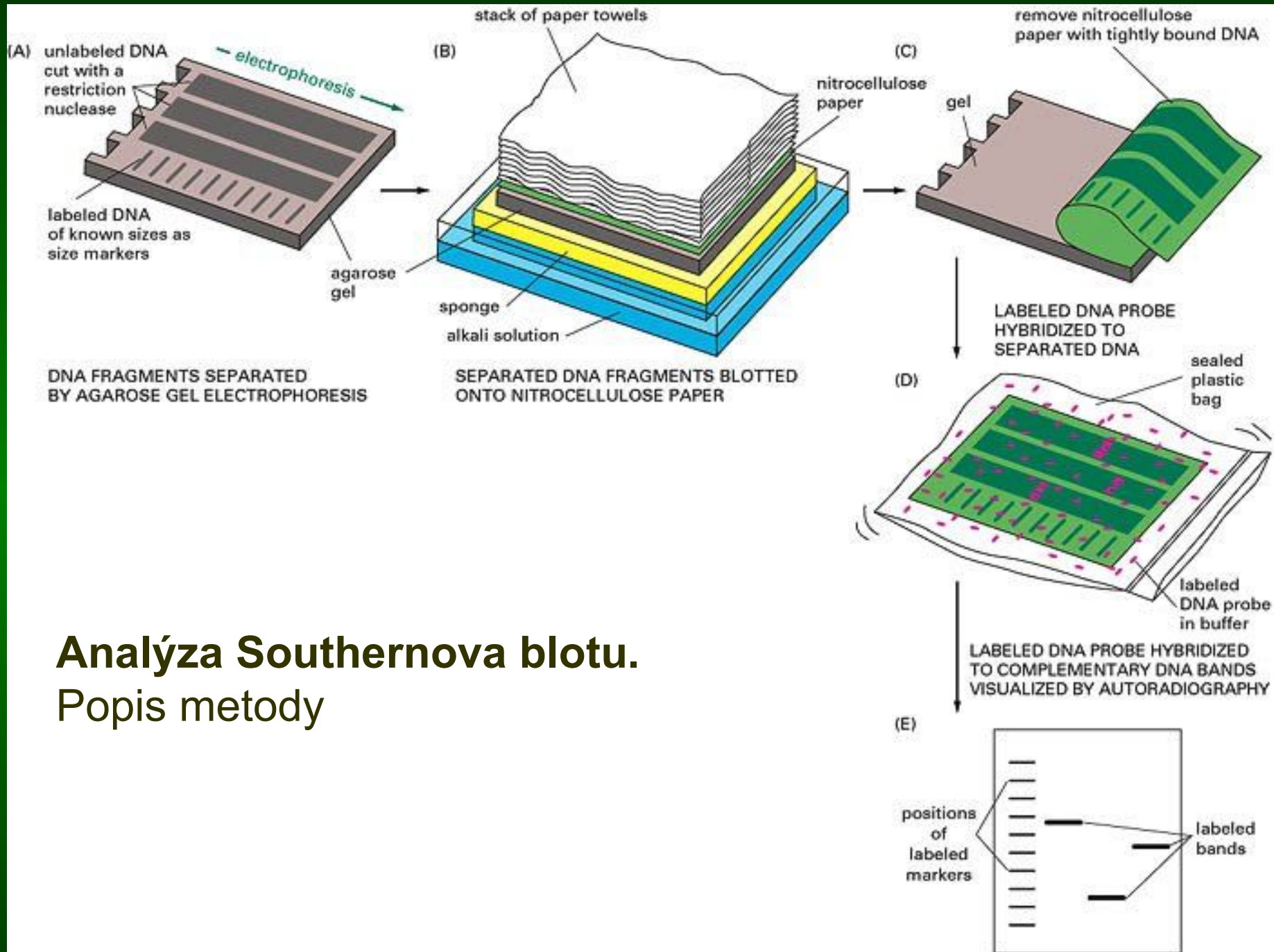


Analýza Southernova blotu. Popis metody (schéma)



Analýza Southernova blotu. Popis hybridizace

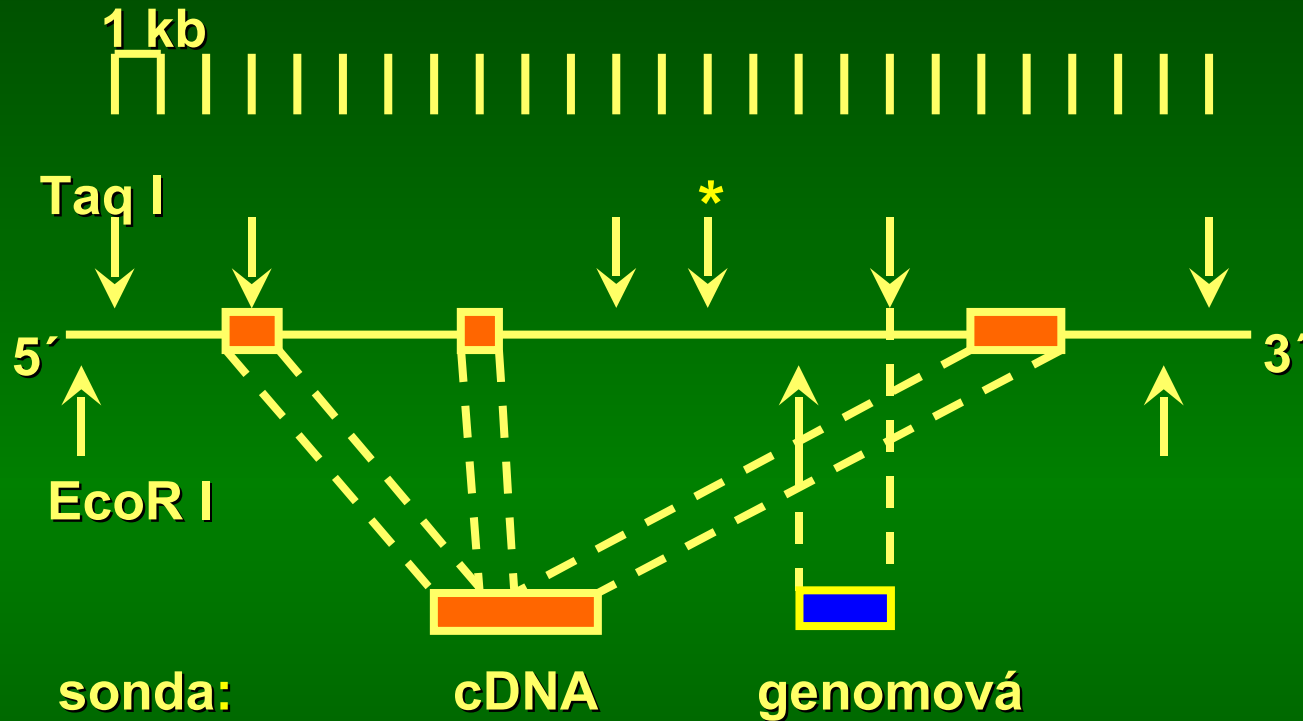




Analýza Southernova blotu.

Popis metody

Úkol č. 4, str. 74 Gen G



Výsledky:

a) na 4 nebo 5 fragmentů:
3kb, 8kb, 6kb/2kb+4kb, 7kb

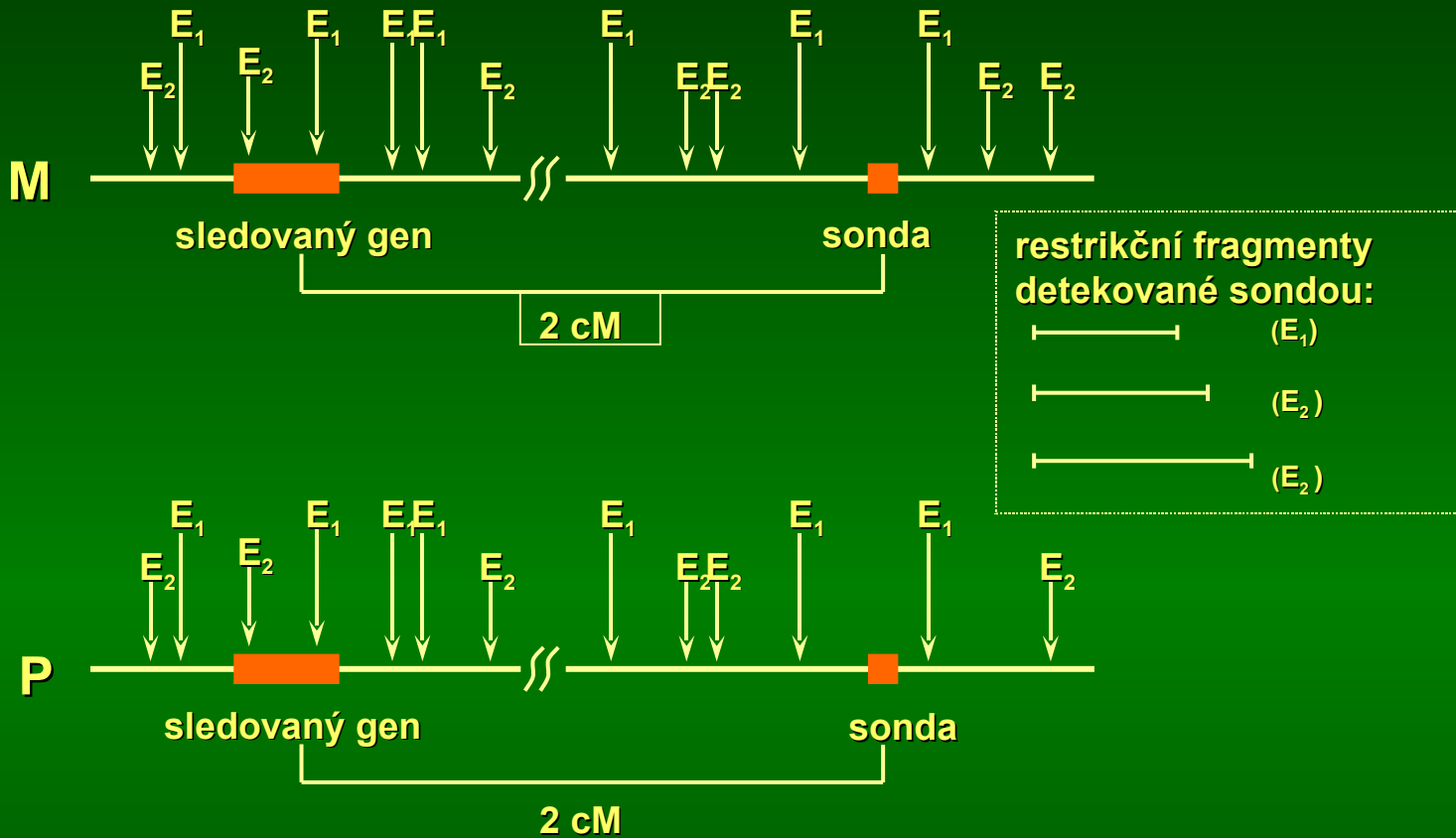
b) 3 fragmenty: 3kb, 8kb, 7kb

c) ne

d) ano

4kb (alela +) 6kb (alela -)

Mimogenová sonda



E₁ – restriční endonukleáza 1

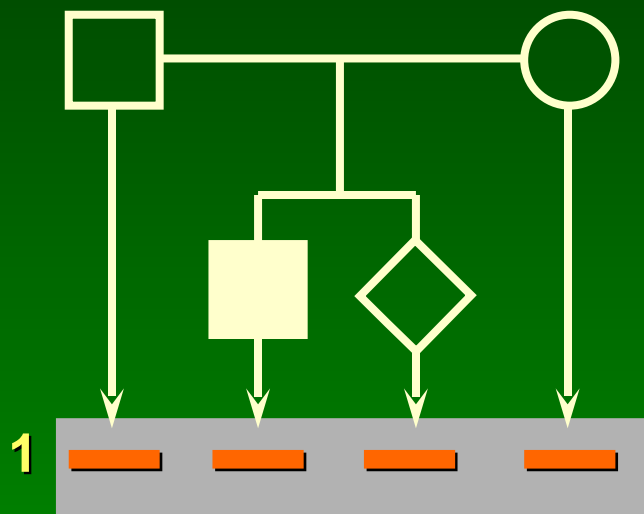
E₂ – restriční endonukleáza 2

M – fragment maternálního chromosomu

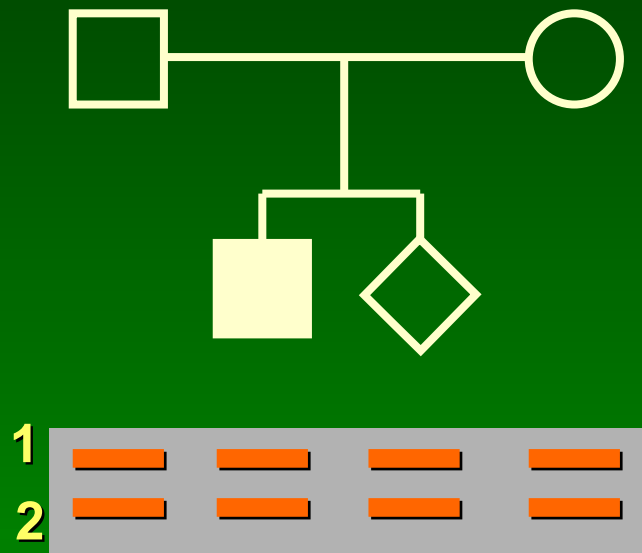
P – fragment paternálního chromosomu

↓ - místa štěpení restriktázami (cílové sekvence)

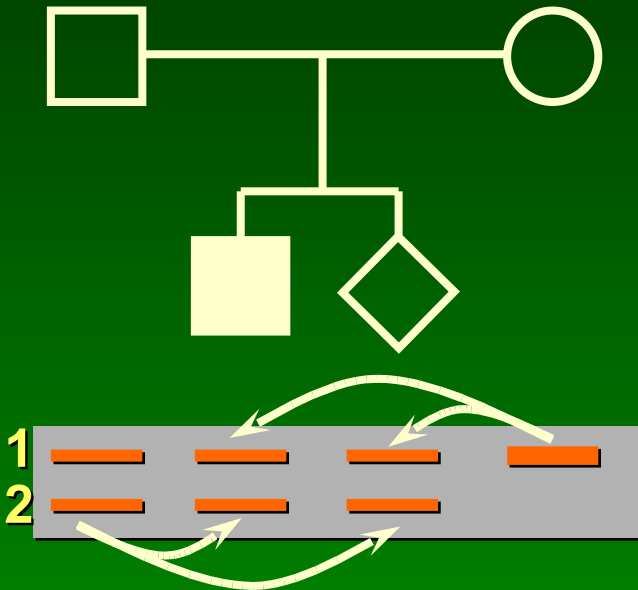
2cM – vzdálenost sledovaným genem a místem, kde hybridizuje sonda, resp. místem restrikce



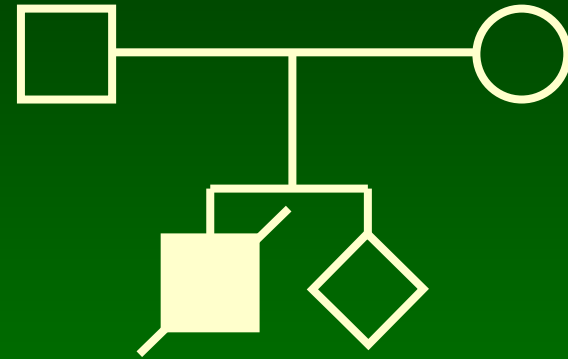
Rodina je tzv. neinformativní. Všichni jsou homozygoti v délce restrikčních fragmentů. (Rodiče heterozygoti ve sledovaném genu). Nevíme však, který fragment 1 předali, zda s mutovanou nebo zdravou alelou.



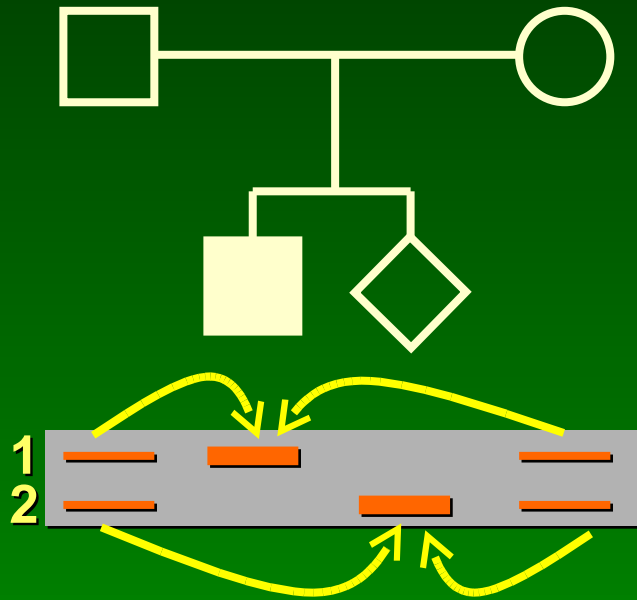
Rodina je opět neinformativní, protože nelze rozhodnout, se kterým fragmentem je ve vazbě mutovaná alela u otce a matky.



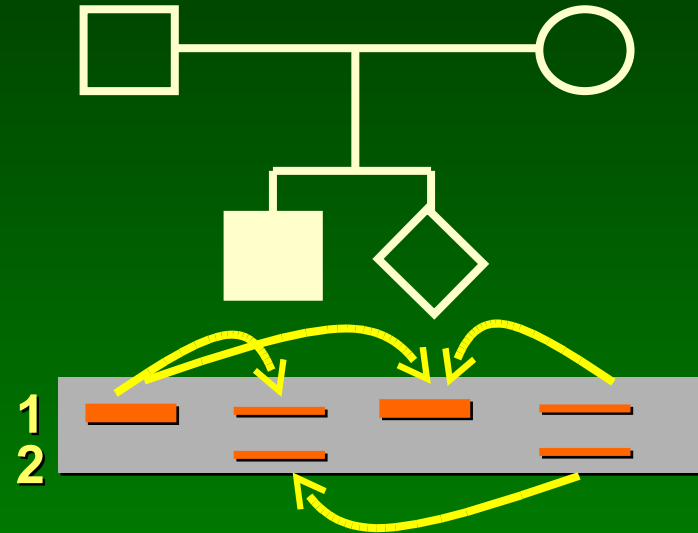
Z otcovy strany fragment 2 ve vazbě s mutovanou alelou, protože postižený syn má fragment 2 od otce. Matka je totiž homozygot (1,1) a tudíž předává potomkům pouze fragmenty 1. Nelze ale rozhodnout, zda druhému dítěti předala fragment se zdravou nebo mutovanou alelou. Druhé dítě bude buď v 50% postiženo nebo v 50% přenašeč.



Zde nebude analýza úspěšná, chybí-li DNA zemřelého syna. Riziko 25%. Rodiče jsou heterozygoti – měli postižené dítě AR chorobou

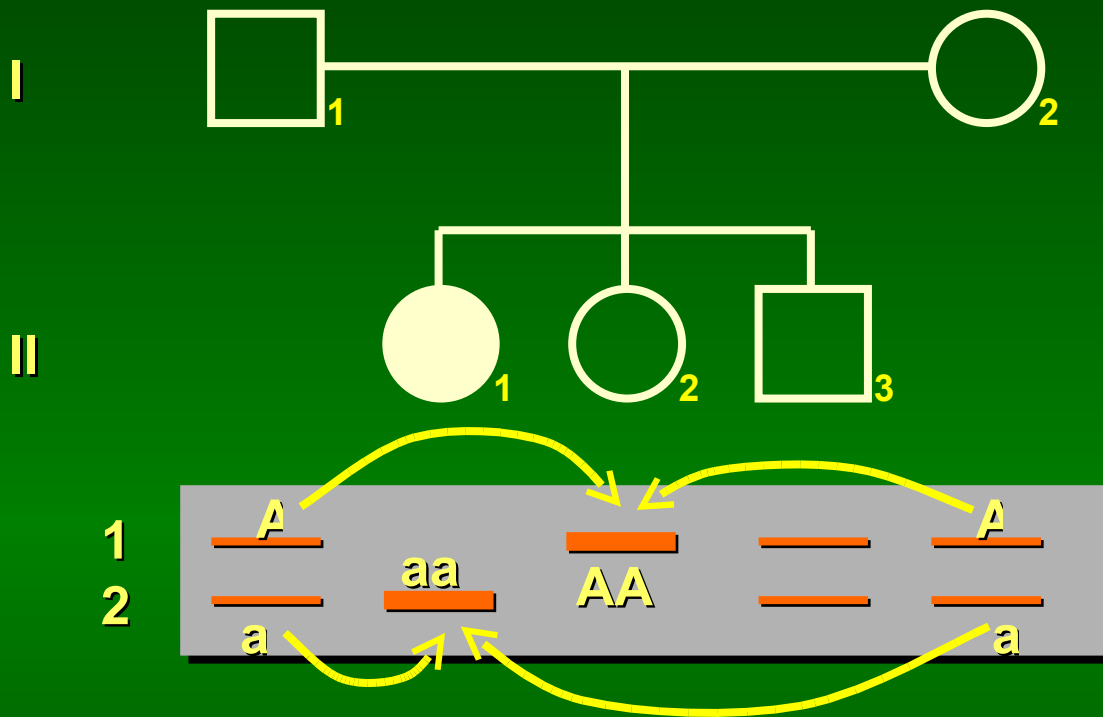


Postižený syn je homozygot v délce restrikčních fragmentů (1,1). Z toho plyne, že fragmenty 1 jsou u obou rodičů ve vazbě s mutovanou alelou. Jestliže druhé dítě je homozygot (2,2), znamená to, že bude zdravý homozygot ve sledovaném genu.



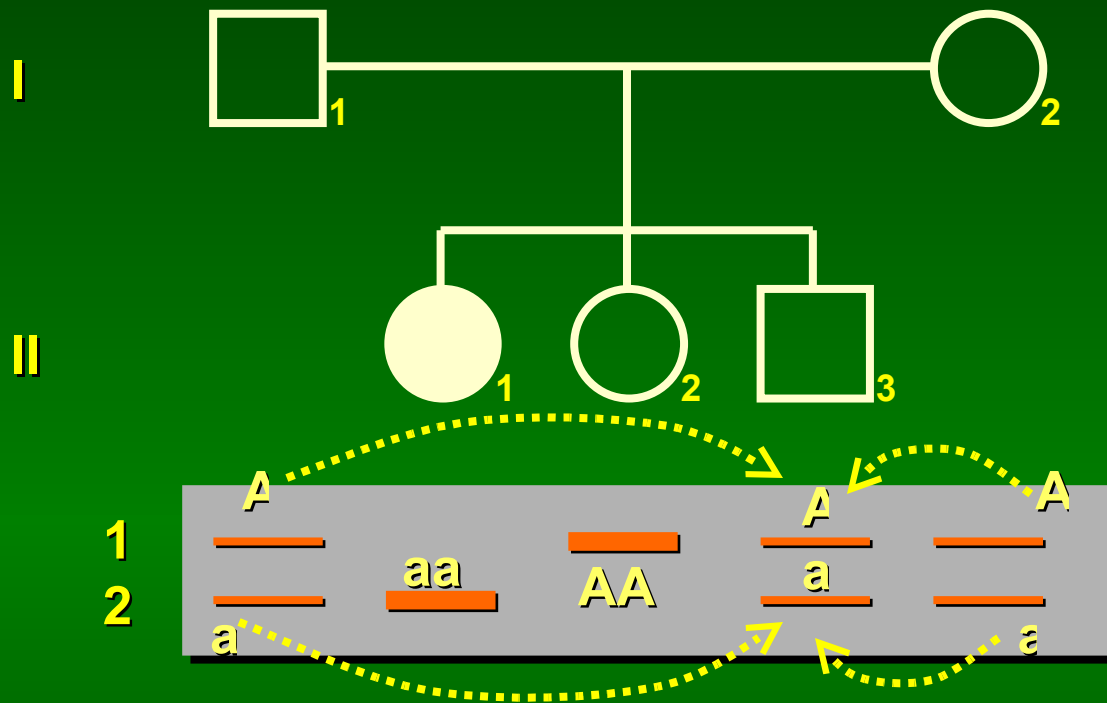
Otec (1,1), matka (1,2), postižený syn (1,2) musí mít fragment 1 od otce a od matky fragment 2, který je ve vazbě s mutovanou alelou. Druhé dítě (1,1) má od matky fragment 1, který nese zdravou alelu a od otce také fragment 1, ale nevíme, zda s mutovanou nebo zdravou alelou. Prognóza: 50% heterozygot, 50% zdravý homozygot ve sledovaném genu - fenotypově zdravé.

Úkol č. 1a, str. 80



Jsou jedinci II/2 a II/3 heterozygoti pro mutovanou alelu sledovaného AR onemocnění? (vazba úplná)

Úkol č. 1a, str. 80

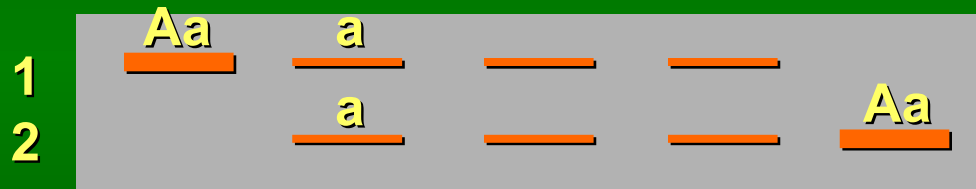
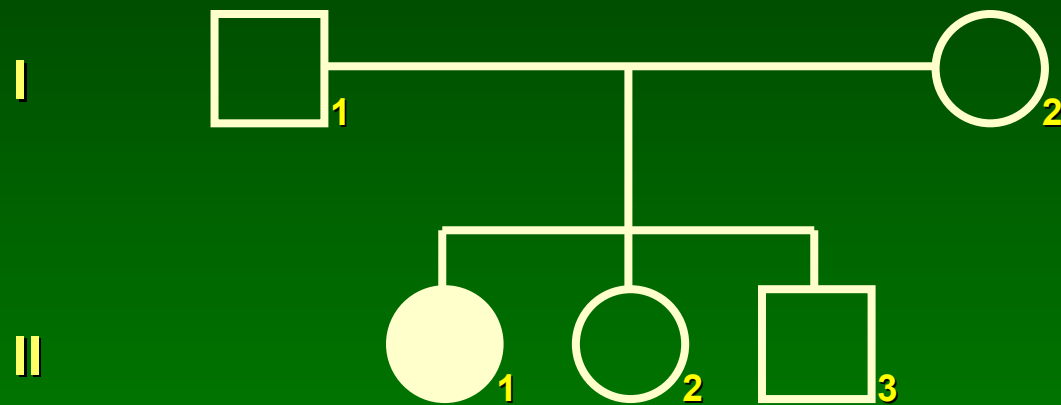


Jsou jedinci II/2 a II/3 heterozygoti pro mutovanou alelu sledovaného AR onemocnění? (vazba úplná)

II/2 ne

II/3 ano

Úkol č. 1b, str. 81



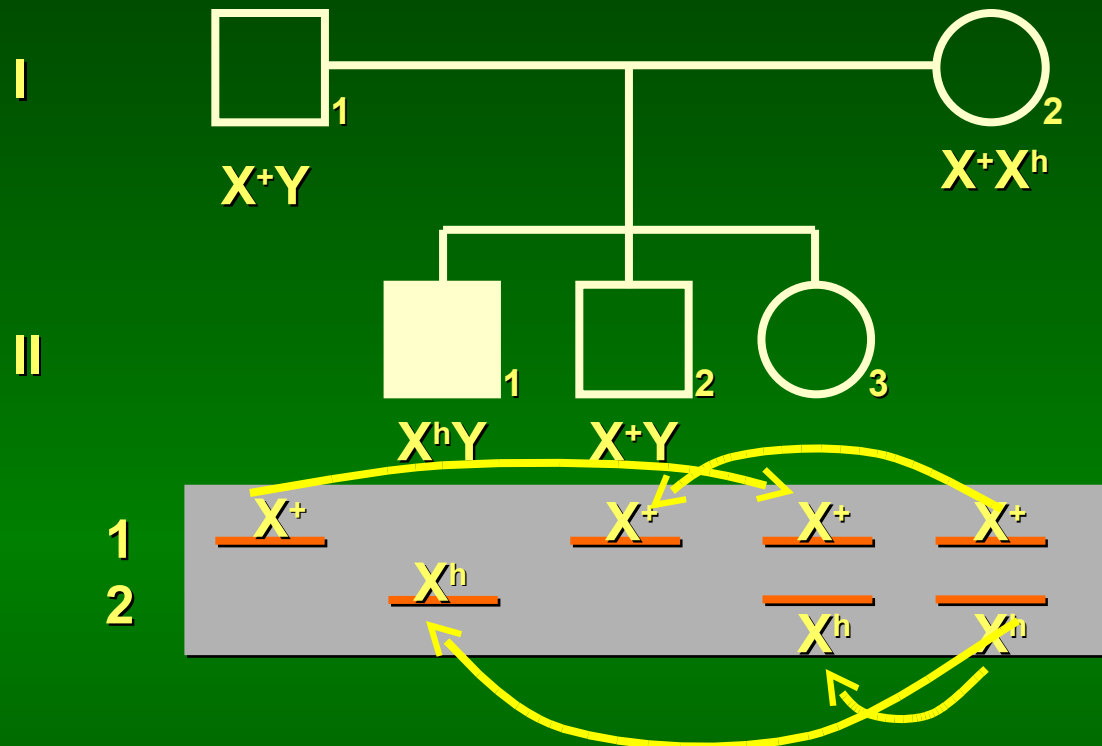
Jsou jedinci II/2 a II/3 heterozygoti pro mutovanou alelu sledovaného AR onemocnění? (vazba úplná)

II/2 AA nebo Aa

II/3 AA nebo Aa

Vyšetření je neúspěšné (neinformativní z hlediska určení heterozygocie jedinců II/2 a II/3).

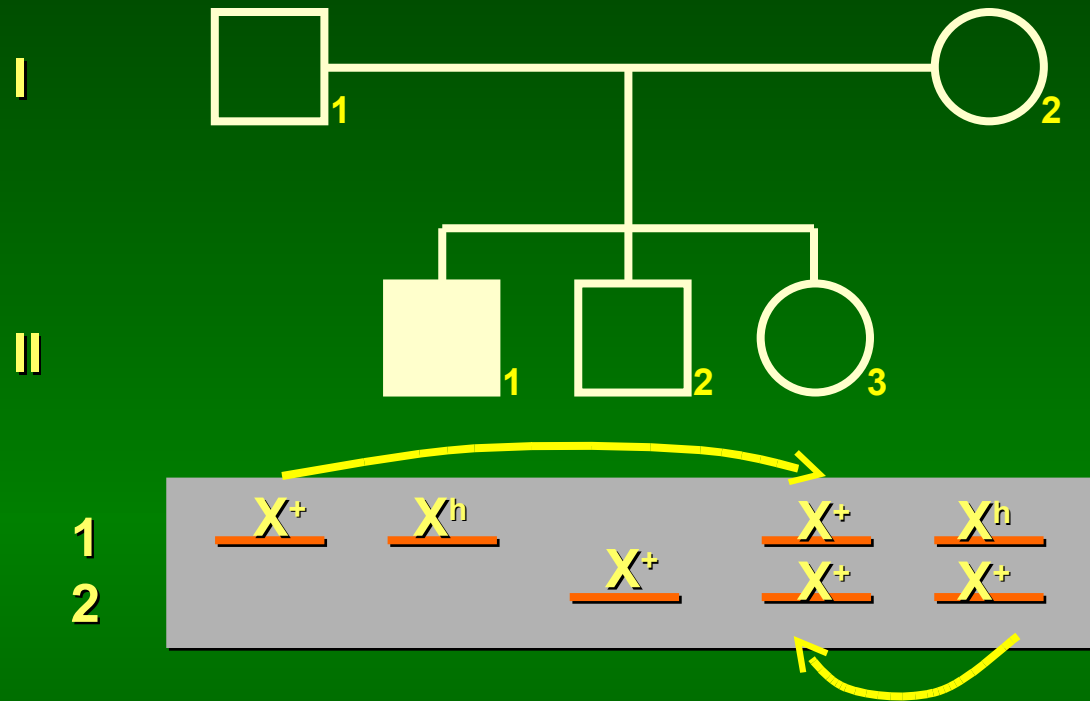
Úkol č. 1c, str. 81



Je dcera II/3 přenašečkou (heterozygot) pro mutovanou alelu sledovaného GR onemocnění? (vazba úplná)

II/3 ano

Úkol č. 1d, str. 81



Je dcera II/3 přenašečkou (heterozygot) pro mutovanou alelu sledovaného GR onemocnění? (vazba úplná)

II/3 ne